

การผลิตแผ่นเส้นใยนาโนจากเจลละติซหนังกปลาโดยใช้การปั่นด้วยไฟฟ้า

นางสาวภณิดา ส่งโชติกุลพันธ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2549

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION OF ELECTROSPUN NANOFIBER MAT FROM FISH SKIN GELATIN

Miss Panida Songchotikunpan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2006

Copyright of Chulalongkorn University

492120

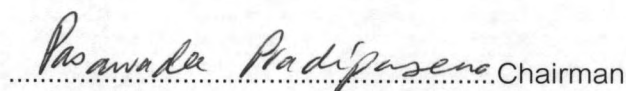
Thesis Title PRODUCTION OF ELECTROSPUN NANOFIBER MAT
FROM FISH SKIN GELATIN
By Miss Panida Songchotikunpan
Field of Study Food Technology
Thesis Advisor Assistant Professor Jirarat Tattiyakul, Ph.D.
Thesis Co-advisor Associate Professor Pitt Supaphol, Ph.D.

Accepted by the Faculty of Science, Chulalongkorn University in Partial
Fulfillment of Requirements for the Master's Degree

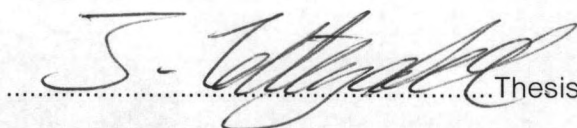


.....Dean of the Faculty of Science
(Professor Piamsak Menasveta, Ph.D.)

THESIS COMMITTEE



.....Chairman
(Assistant Professor Pasawadee Pradipasena, Sc.D.)



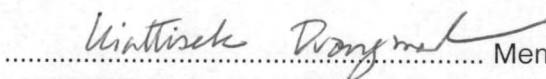
.....Thesis Advisor
(Assistant Professor Jirarat Tattiyakul, Ph.D.)



..... Thesis Co-advisor
(Associate Professor Pitt Supaphol, Ph.D.)



..... Member
(Assistant Professor Ubonrat Siripatrawan, Ph.D.)



..... Member
(Kiattisak Duangmal, Ph.D.)

ภานิดา ส่งโชติกุลพันธ์ : การผลิตแผ่นเส้นใยนาโนจากเจลาตินหนังปลาโดยใช้การปั่นด้วยไฟฟ้า (PRODUCTION OF ELECTROSPUN NANOFIBER MAT FROM FISH SKIN GELATIN) อ. ที่ปรึกษา : ผศ.ดร. จีรารัตน์ ทัดติยกุล, อ. ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. พิชญ์ ศุภผล 91 หน้า.

การสกัดเจลาตินจากหนังปลานิลโดยการแช่หนังปลาในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.4% w/v เพื่อกำจัดโปรตีนที่ไม่ต้องการออกไป จากนั้นแช่ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.4% v/v เพื่อให้คอลลาเจนเกิดการพองตัว สกัดเจลาตินด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C นาน 1.5 ชั่วโมง แล้วทำแห้งโดยการระเหยน้ำด้วยเครื่องระเหย และอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 18 ชั่วโมง ได้เจลาตินคิดเป็น 18% ของน้ำหนักเปียก เจลาตินที่ได้มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบหลัก มีไขมันและเถ้าในปริมาณน้อย ค่าความแข็งแรงของเจลและความหนืดของสารละลายเจลาตินที่ shear rate 80 s⁻¹ สำหรับเจลาตินเข้มข้น 6.67% w/v คือ 328 g และ 17.79 cP ตามลำดับ องค์ประกอบกรดอะมิโนของเจลาตินจากหนังปลานิลมีค่าใกล้เคียงกับเจลาตินจากหนังหมู ซึ่งมีกรดอะมิโนชนิดหลักคือ โกลซีน อะลานีน กรดกลูตามิก โปรลีน อาร์จินีน และ ไฮดรอกซีโปรลีน จากการศึกษาารูปแบบของโปรตีนโดยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส พบว่าเจลาตินจากหนังปลาและเจลาตินทางการค้าที่สกัดจากหนังหมูมีรูปแบบของโปรตีนคล้ายกัน

ในการศึกษาการปั่นเส้นใยเจลาตินด้วยไฟฟ้า พบว่า กรดอะซิติกเข้มข้น 40% v/v และ กรดฟอร์มิกเข้มข้น 80% v/v เป็นตัวทำละลายที่ให้เส้นใยที่ต่อเนื่อง สม่ำเสมอ และไม่เกิดปม เส้นใยนาโนเจลาตินมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 233 นาโนเมตร และ 137 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อความเข้มข้นของกรดมากขึ้นความหนืดของสารละลายเจลาตินมากขึ้น การนำไฟฟ้ามีแนวโน้มลดลง และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น ความเข้มข้นของเจลาตินที่ทำให้เส้นใยเจลาตินมีความสม่ำเสมอ ไม่มีปม สำหรับตัวทำละลายกรดอะซิติกเข้มข้น 40% v/v คือ 17, 20 และ 23% w/v เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 208 นาโนเมตร และ 316 นาโนเมตร สำหรับตัวทำละลายกรดฟอร์มิกเข้มข้น 80% v/v คือ 20, 23 และ 26% w/v เส้นใยที่ได้มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 238 นาโนเมตร และ 284 นาโนเมตร เมื่อความเข้มข้นของเจลาตินมากขึ้นความหนืด การนำไฟฟ้า และเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยมีแนวโน้มมากขึ้น จากการศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นเส้นใยเจลาตินที่ผ่านการเชื่อมขวางและไม่ผ่านการเชื่อมขวางด้วยกลูตารัลดีไฮด์ พบว่าแผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางมีค่าต้านทานแรงดึงและค่าโมดูลัสของยังสูงกว่าแผ่นเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง ส่วนการยึดตัวมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P > 0.05) แผ่นเส้นใยที่ผ่านการเชื่อมขวางมีค่าสีเหลืองสูงกว่าแผ่นเส้นใยที่ไม่ผ่านการเชื่อมขวาง

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....
สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร.....
ปีการศึกษา.....2549.....

ลายมือชื่อนิสิต.....ภานิดา ส่งโชติกุลพันธ์.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4772415423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: GELATIN/ ELECTROSPINNING/ NANOFIBERS

PANIDA SONGCHOTIKUNPAN: PRODUCTION OF ELECTROSPUN NANOFIBER MAT FROM FISH SKIN GELATIN. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. JIRARAT TATTIYAKUL, Ph.D., THESIS CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. PITT SUPAPHOL, Ph.D., 91 pp.

Gelatin from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) skin was prepared by deproteinization in 0.4% w/v NaOH. Swelling process was carried out by soaking the pretreated skin in 0.4% w/v HCl. Then gelatin was extracted using distilled water at 70 °C for 1.5 hours. The gelatin solution was evaporated and dried at 50 °C for 18 hours. The yield of gelatin was 18% (wet basis). The gelatin contained protein as the major composition and low fat and ash contents. Gel strength and viscosity at 80 s⁻¹ shear rate of 6.67% w/v gelatin were 328 g and 17.79 cP, respectively. Amino acid compositions of fish skin and porcine skin gelatin were quite similar. The main amino acids contents of gelatin from Nile tilapia skin were glycine, alanine, glutamic acid, proline, arginine, and hydroxyproline. Similar protein patterns were observed for fish skin and porcine skin gelatin.

In the electrospinning study, 40% v/v acetic acid and 80% v/v formic acid concentration gave smooth and uniform ultra fine fibers with an average diameter of 233 nm and 137 nm, respectively. The viscosity of gelatin solution increased while the conductivity decreased when the solvent concentration increased causing the fiber diameter to increase. The resulting smooth and uniform ultra fine fibers with an average diameter between 208 nm and 316 nm were obtained when using 17, 20, and 23% w/v gelatin concentrations in acetic acid solvent. In formic acid solvent, 20, 23, and 26% w/v gelatin concentrations gave smooth and uniform ultra fine fibers with an average diameter between 238 nm and 284 nm. The viscosity and conductivity of gelatin solution and fiber diameter were found to increase with increasing gelatin concentration. The tensile strength and Young's modulus of gelatin nanofibers mats increased when the mats were crosslinked with glutaraldehyde. Elongation of the crosslinked and non-crosslinked gelatin nanofibers mats at all gelatin concentrations did not differ significantly ($P > 0.05$). The colour of the crosslinked gelatin nanofiber became visibly yellowish.

Department.....Food Technology.....

Field of study....Food Technology.....

Academic year.....2006.....

Student's signature.....*Panida Songchotikunpan*.....

Advisor's signature.....*Jirarat Tattiyakul*.....

Co-Advisor's signature.....*Pitt Supaphol*.....

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to express my greatest gratitude and appreciation to my advisor, Asst. Prof. Dr. Jirarat Tattiyakul of the Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, for her kindness, continuous attention, and guidance throughout the years of my study.

I also would like to express my gratitude to my co-advisors, Assoc. Prof. Dr. Pitt Supaphol of the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University, for his kindness, advise, and helpful suggestion.

I am also very thankful to my examination committee, Asst. Prof. Dr. Pasawadee Pradipasena, Asst. Prof. Dr. Ubonrat Siripatrawan, and Dr. Kiattisak Duangmal of the Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, for their kindness and helpful suggestion.

A special appreciation is given to all members of the Petroleum and Petrochemical College, Chulalongkorn University for their kindly help and warmth of friendship. I also express my appreciation to all my friends and staff of the Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University and many involved persons for their kind help, encouragement and assistance throughout my study.

Finally, none of this would have been possible without love and encouragement of my family.

CONTENTS

	PAGE
ABSTRACT (THAI).....	iv
ABSTRACT (ENGLISH).....	v
ACKNOWLEDGEMENTS.....	vi
CONTENTS.....	vii
LIST OF TABLES.....	x
LIST OF FIGURES.....	xi
CHAPTER 1 INTRODUCTION.....	1
CHAPTER 2 LITERATURE REVIEW.....	3
2.1 Gelatin.....	3
2.2 Collagen.....	3
2.3 Gelatin structure.....	6
2.3.1 Primary structure.....	6
2.3.2 Secondary structure and molecular weight.....	6
2.4 Manufacturing of gelatin.....	9
2.5 Formation of the gelatin gel.....	14
2.6 Physico-chemical properties.....	16
2.7 Applications of gelatin.....	18
2.8 Electrospinning process.....	20
2.9 Literature Reviews.....	26
CHAPTER 3 MATERIALS AND METHODS.....	29
3.1 Materials.....	29
3.2 Chemical reagents.....	29
3.3 Instruments.....	31
3.4 Extraction of gelatin from nile tilapia skin.....	32

3.5 Characterization and physical properties of gelatin from nile tilapia skin.....	33
3.5.1 Determination of chemical compositions.....	33
3.5.2 Determination of gelatin gel strength.....	33
3.5.3 Viscosity of gelatin solution.....	33
3.5.4 Colour of gelatin powder.....	34
3.5.5 pH of gelatin solution.....	34
3.5.6 Amino acid analysis.....	34
3.5.7 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis.....	34
3.6 Production of nile tilapia skin gelatin nanofiber by electrospinning process.....	35
3.6.1 Determination of solvent concentration.....	35
3.6.1.1 Preparation of gelatin solution.....	36
3.6.1.2 Electrospinning process.....	36
3.6.1.3 Characterization of gelatin solution.....	37
3.6.1.4 Characterization of gelatin nanofibers.....	37
3.6.2 Determination of gelatin concentration.....	38
3.6.2.1 Preparation of gelatin solution.....	38
3.6.2.2 Electrospinning process.....	39
3.6.2.3 Characterization of gelatin solution.....	39
3.6.2.5 Characterization of gelatin nanofibers.....	39
3.6.3 Production of nile tilapia skin gelatin nanofiber mat.....	39
3.6.3.1 Preparation of gelatin solution.....	39
3.6.3.2 Electrospinning process.....	39
3.6.3.3 Crosslinking of gelatin nanofiber mat with glutaraldehyde.....	40
3.6.3.4 Characterization of gelatin nanofiber mat before and after crosslinking.....	40
3.6.3.4.1 Morphology of gelatin nanofiber mat.....	40
3.6.3.4.2 Mechanical properties of gelatin nanofiber mat.....	40

3.6.3.4.3 Colour of gelatin nanofiber mat.....	41
3.7 Statistical analysis.....	41
CHAPTER 4 RESULTS AND DISCUSSION.....	42
4.1 Characterization of gelatin from nile tilapia skin.....	42
4.1.1 Compositions of nile tilapia skin.....	42
4.1.2 Extraction of gelatin from nile tilapia skin.....	43
4.1.3 Physical and chemical properties of gelatin from nile tilapia skin.....	43
4.1.4 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis patterns of nile tilapia skin gelatin.....	49
4.2 Production of nile tilapia skin gelatin nanofiber mat by electrospinning process.....	50
4.2.1 Effect of solvent concentration on properties of the fish skin gelatin solution and morphological of gelatin nanofibers.....	50
4.2.2 Effect of gelatin concentration on properties of the fish skin gelatin solution and morphological of gelatin nanofibers.....	56
4.2.3 Mechanical properties of gelatin nanofibers mat.....	63
CHAPTER 5 CONCLUSIONS.....	72
REFERENCES.....	73
APPENDICES.....	78
Appendices A.....	79
Appendices B.....	86
CURRICULUM VITAE.....	91

LIST OF TABLES

TABLE	PAGE
2.1 The major molecular fractions of gelatin as seen in Figure 2.2.....	8
2.2 Bloom strength ranges for type A and type B gelatins.....	17
2.3 Processing parameters in electrospinning.....	25
4.1 Proximate compositions of skin from Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	42
4.2 Proximate compositions of gelatin from Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) skin.....	44
4.3 Physical and chemical properties of gelatin from Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) skin.....	45
4.4 Amino acid compositions of gelatin from Nile tilapia skin and pig skin....	47
4.5 Properties of acetic acid and formic acid.....	62
4.6 The lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*) of electrospun gelatin/acetic acid nanofiber before and after crosslinking.....	70
4.7 The lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*) of electrospun gelatin/formic acid nanofiber mats before and after crosslinking.....	71
A5.1 Formulation for SDS-PAGE separating and stacking gels.....	85
B1 The effect of acetic acid concentration on the gelatin solution properties and average gelatin nanofiber diameter.....	86
B2 The effect of formic acid concentration on the gelatin solution properties and average gelatin nanofiber diameter.....	86
B3 The effect of gelatin concentration on the solution properties and average gelatin nanofiber diameter when 40% v/v acetic acid was used as the solvent.....	87
B4 The effect of gelatin concentration on the solution properties and average gelatin nanofiber diameter when 80% v/v formic acid was used as the solvent.....	87
B5 Mechanical properties of gelatin nanofiber mat.....	88

LIST OF FIGURES

FIGURE	PAGE
2.1 Stages in the formation of collagen.....	5
2.2 Molecular weight distribution showing the major structural components of gelatin.....	7
2.3 Factors determining optimum gelatin extraction conditions.....	12
2.4 Scheme for the concentration- and temperature-dependent pathways for helix formation in α chains derived from collagen.....	15
2.5 Schematic of the electrospinning set up.....	21
2.6 A series of droplet shapes takes at frame rate of 500 frames per second and a shutter speed of 2 ms.....	22
2.7 Images of electrospinning jet with different exposure times.....	23
2.8 The development of the second cycle of bending instability.....	24
3.1 Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	29
3.2 Extraction of gelatin from nile tilapia skin.....	29
3.3 Flow chart of electrospinning process for single solvent system.....	35
3.4 Setup of the electrospinning apparatus for the production gelatin nanofibers.	37
3.5 Flow chart of electrospinning process with varying gelatin concentrations..	38
4.1 SDS-PAGE pattern of nile tilapia skin gelatin and pig skin gelatin.....	49
4.2 The effect of acetic acid concentration on the gelatin solution properties and average gelatin nanofiber diameter.....	51
4.3 The effect of formic acid concentration on the gelatin solution properties and average gelatin nanofiber diameter.....	52
4.4 SEM photographs of electrospun gelatin/acetic acid fibers at 15% w/v gelatin concentration and various acetic acid concentrations (10%-100% acetic acid concentrations).....	54
4.5 SEM photographs of electrospun gelatin/formic acid fibers at 15% w/v gelatin concentration and various formic acid concentrations (10%-100% formic acid concentrations).....	55

4.6	The effect of gelatin concentration on the solution properties and average gelatin nanofiber diameter when 40% v/v acetic acid was used as the solvent.....	57
4.7	The effect of gelatin concentration on the solution properties and average gelatin nanofiber diameter when 80% v/v formic acid was used as the solvent.....	58
4.8	SEM photographs of electrospun gelatin/acetic acid nanofibers with varying gelatin concentrations (5% - 29% w/v).....	60
4.9	SEM photographs of electrospun gelatin/formic acid nanofibers with varying gelatin concentrations (5% - 29%).....	61
4.10	Tensile strength of the electrospun gelatin/acetic acid nanofiber mats with 17, 20, and 23% w/v gelatin concentrations before and after crosslinking....	64
4.11	The Young's modulus of the electrospun gelatin/acetic acid nanofiber mats with 17, 20, and 23% w/v gelatin concentrations before and after crosslinking	64
4.12	Elongation of the electrospun gelatin/acetic acid nanofiber mats with gelatin concentrations at 17, 20, and 23% w/v before and after crosslinking..	65
4.13	Tensile strength of the electrospun gelatin/formic acid nanofiber mats with gelatin concentrations at 20, 23, and 26% w/v before and after crosslinking.	66
4.14	The Young's modulus of the electrospun gelatin/formic acid nanofiber mats with gelatin concentrations at 20, 23 and 26% w/v before and after crosslinking.....	67
4.15	Elongation of the electrospun gelatin/formic acid nanofiber mats with gelatin concentrations at 20, 23, and 26% w/v before and after crosslinking.	67
4.16	SEM photographs of electrospun gelatin/acetic acid nanofibers mats with gelatin concentrations at 17, 20, and 23% w/v; (a) before crosslinking, and (b) after crosslinking.....	68
4.17	SEM photographs of electrospun gelatin/formic acid nanofibers mats with gelatin concentrations at 20, 23, and 26% w/v; (a) before crosslinking, and (b) after crosslinking.....	69
B1	Swelling of the gelatin nanofiber mats after the immersion in distilled water..	89
B2	Weight loss of the gelatin nanofiber mats after the immersion in distilled water	90